Product sheet

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Обща информация

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP е генетично модифицирана клетъчна линия, получена от майчината линия на човешкия остеосарком U-2 OS. Тази клетъчна линия включва целенасочено вмъкване на мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP) в локуса на гена NUP96, постигнато чрез технологията за редактиране на гени CRISPR-Cas9. NUP96, част от комплекса на ядрените пори, е от съществено значение за ядрения транспорт, а сливането му с mEGFP позволява визуализиране на динамиката на ядрените пори в реално време под флуоресцентна микроскопия, което предоставя ценни данни за механизмите на ядрения транспорт и ядреноцитоплазмения трафик. Този специфичен клон, номериран с номер 195, е подбран заради стабилната експресия на фюжън протеина NUP96-mEGFP и поддържа типичните характеристики на линията U-2 OS, включително здрава цитоскелетна структура, която е от решаващо значение при изследвания, свързани с миграцията и метастазирането на раковите клетки. Прилагането на технологията CRISPR осигурява прецизно редактиране на гените, като свежда до минимум ефектите извън целта, които биха могли да компрометират целостта на експерименталните резултати. Това прави U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP клонинг № 195 особено полезен за техники за визуализация с висока резолюция и подробни изследвания на клетъчната архитектура, подпомагащи напредналите изследвания в областта на клетъчната биология, изследванията на рака и ядрените транспортни явления.
Organism	Човек
Tissue	Bone
Disease	Остеосарком

Характеристики

Age	15 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP клон № 195 (каталожен номер на Cytion 300174)

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FJ
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, клон 195) съдържа CRISPR-инженерен синтез NUP96-mEGFP, въведен чрез лентивирусно доставяне, което позволява флуоресцентно проследяване на комплексите на ядрените пори. Модификацията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	MEGFP (белтък на комплекса на ядрената пора 96, маркиран с mEGFP)

Работа с

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820200a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.